UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II
Unités d'Enseignement et de Recherche
de Sciences médicales et pharmaceutiques

Année 1973 - Thèse N° 649

LE VERT D'INDOCYANINE EN PERFUSION CONTINUE

(Une méthode nouvelle d'exploration hépatique)

Thèse pour le Doctorat de l'Université
(Mention Pharmacie)
présentée et soutenue publiquement
le Lundi 19 Février 1973

par Charles-Alain MONTANTIN
Interne en Pharmacie
Médaille d'Or des Hôpitaux
Assistant de Sciences Fondamentales
né le 28 Juillet 1945 à POINTE-A-PITRE (Guadeloupe)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. F.J. TRAISSAC, Professeur	Président
M. R. MASQUELIER, Professeur	Juges
M. R. GOLSE, Professeur	
M. J. PACCALIN, Agrégé	

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél. 91.12.59 —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547324_0012

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II
Unités d'Enseignement et de Recherche
de Sciences médicales et pharmaceutiques

Année 1973 - Thèse N° 649

LE VERT D'INDOCYANINE EN PERFUSION CONTINUE

(Une méthode nouvelle d'exploration hépatique)

Thèse pour le Doctorat de l'Université
(Mention Pharmacie)
présentée et soutenue publiquement
le Lundi 19 Février 1973

par Charles-Alain MONTANTIN
Interne en Pharmacie
Médaille d'Or des Hôpitaux
Assistant de Sciences Fondamentales
né le 28 Juillet 1945 à POINTE-A-PITRE (Guadeloupe)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. F.J. TRAISSAC, Professeur . . . . . Président

M. R. MASQUELIER, Professeur . . . . . }
M. R. GOLSE, Professeur . . . . . } Juges
M. J. PACCALIN, Agrégé . . . . . }

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél. 91.12.39 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MON PERE

A MA MERE

Malgré la distance qui nous séparait parfois, vous avez toujours eu les mots et les gestes qu'il fallait pour m'encourager et me soutenir.
Ce travail est la preuve de mon affection et de ma reconnaissance.

A MES FRERES

A MA SŒUR

En souvenir de GRAND-PERE et GRAND-MERE

A MON ONCLE EDOUARD

A MA TANTE CAMILLE

A MA FEMME

Michou, je tiens à te remercier pour le bonheur que tu me donnes ; sans toi, je n'aurais jamais pu être interne et encore moins pharmacien.

A MES DEUX PETITS BONHOMMES

Jérôme et Nicolas

A MON BEAU-PERE

A MA BELLE-MERE

J'ai été profondément touché par la sympathie et la gentillesse que vous m'avez toujours témoignées.
Merci.

A PAPE et MAME

Qui ont su si bien me faire ressentir à quel point ils m'aimaient.

A PARRAIN

Avec toute mon affection.

A MES COUSINS ADRIEN et MIREILLE DAVID

et leur fils SERGE

CHARLES et HELENE DAVID

et leur fille HELENE

Qui, pendant toutes mes études ne m'ont jamais refusé ni leur aide ni leur affection.

A TOUS CEUX QUI M'ONT AIDE

Mademoiselle MIREILLE BERNARD

Mesdames les Surveillantes du Service

Mesdemoiselles les Infirmières

Messieurs les préparateurs de la Pharmacie de l'Hôpital Saint-André

A ROBERT GASQUET

"L'eau de Dalibour fraîche est bleutée". *Mars 1968*

A G. et M. ORTSCHEID, mes maîtres de stage

Je vous suis infiniment reconnaissant de m'avoir accepté comme élève car ce fut le point de départ de tout tout ce que j'ai pu accomplir.

A Messieurs les Professeurs BERAUD
et DANGOUMAUD

qui m'ont aidé et dirigé dans ce travail.

A Monsieur le Docteur MOTHES

qui ne s'est jamais départi de sa bonne humeur et de sa gentillesse, même quand il fallut refaire les calculs.

Monsieur le Professeur J. CANELLAS

Professeur de Pharmacodynamie et d'Hydrologie
Licencié ès Sciences
Officier des Palmes académiques

Nous vous remercions de nous avoir réservé un accueil bienveillant et vous prions de croire en notre respectueuse gratitude.

A NOS JUGES

Monsieur le Docteur J. PACCALIN

Maître de Conférences agrégé de Thérapeutique, Réanimation médicale, Rééducation fonctionnelle et Hydrologie
Médecin des Hôpitaux

Nous avons beaucoup apprécié votre spontanéité jointe à un dynamisme et une bonne humeur de tous les instants. Nous avons profité de votre expérience médicale au cours de nombreux travaux accomplis sous votre direction dans le Service de Clinique Thérapeutique.
Aujourd'hui vous nous faites l'honneur d'être de nos juges. Recevez l'assurance de notre reconnaissance.

Monsieur le Professeur R. GOLSE

Professeur de Chimie générale et minérale
Docteur ès Sciences physiques
Pharmacien des Hôpitaux
Officier des Palmes académiques

Vous avez manifesté, dès le début de ce travail, un intérêt qui ne s'est jamais démenti. Nous n'avons jamais hésité à vous demander conseil car nous connaissions la rigueur de votre esprit scientifique.
Aujourd'hui nous présentons ce travail à votre appréciation.
Avec nos remerciements.

Monsieur le Professeur J. MASQUELIER

Directeur de l'U.E.R. de Sciences Pharmaceutiques
Professeur de Matière médicale et Microbiologie
Officier des Palmes académiques
Chevalier du Mérite agricole
Docteur ès Sciences

Bien que le temps ait passé, nous avons encore en mémoire l'enseignement brillant que vous nous avez dispensé en Matière Médicale. Malgré vos nombreuses obligations, vous nous avez toujours réservé un accueil aimable.

Aujourd'hui, le chercheur infatigable que vous êtes daigne s'intéresser à ce travail. C'est pour nous un redoutable honneur que d'être soumis à votre critique. En vous remerciant par avance de vos remarques justifiées, recevez l'assurance de notre respectueuse considération.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur F.J. TRAISSAC

Professeur de Clinique thérapeutique
Médecin des Hôpitaux, Chef de Service
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes académiques

Nous avons eu la chance d'être le premier interne en pharmacie nommé dans votre Service. Nous avons occupé ce poste pendant plus de trois ans ; trois ans pendant lesquels nous avons été heureux de travailler et pendant lesquels nous avons subi une critique aussi constructive que profitable.

Ce que nous avons appris à vos côtés a éveillé chez nous la vocation d'être médecin. C'est pourquoi nous avons entrepris ces études que nous vous promettons, Maître, de mener à bien.

Recevez l'assurance de notre respectueuse admiration.

LE VERT D'INDOCYANINE

EN PERFUSION CONTINUE

(Une méthode nouvelle d'exploration hépatique)

Le vert d'indocyanine, synthétisé par

HYNSON, WESTCOTT DUNNING and CO, Baltimore (Maryland),

est importé en France par

LE GROUPE D'IMPORTATION DES PRODUITS PHARMACEUTIQUES,

46, rue Turbigo - PARIS -

I N T R O D U C T I O N

° ° ° °

L'exploration fonctionnelle hépatique a toujours passionné les biologistes et les cliniciens, il suffit pour s'en rendre compte de considérer le nombre quasiment illimité de tests et d'épreuves qui ont été successivement préconisées puis abandonnées ou qui sont encore utilisées. Ceci prouve la complexité du problème : les fonctions hépatiques sont multiples et un test simple ne peut rendre compte que de manière imparfaite de la physiologie et éventuellement de la pathologie de l'organe.

Dès les années 1920, les chercheurs américains ROSENTHAL et WHITE essayaient systématiquement les colorants : ils portaient un grand intérêt aux dérivés de la phtaléine, chlorephtaléine, bromephtaléine, tribromophtaléine, enfin bromesulfonephtaléine (BSP).

En 1924 ROSENTHAL et WHITE montraient que les résultats les plus intéressants étaient donnés par la BSP qui est restée depuis le principal colorant utilisé pour l'étude des fonctions chromagogues.

Depuis de nombreuses méthodes tentèrent d'établir une relation plus précise entre les chiffres trouvés et le fonctionnement de l'organe. Parmi ces méthodes on distingue 3 groupes :

a) Après une injection unique de colorant à une dose calculée en fonction du poids, de la taille, ou de la surface corporelle, on évalue la clearance fractionnelle sur les 20 premières minutes ; ou encore la concentration plasmatique résiduelle exprimée en pourcentage d'une concentration théorique initiale obtenue par extrapolation . C'est l'épreuve à la BSP que connaissent et utilisent la plupart des cliniens à la 15ème et à la 45ème minute.

b) En 1956 certains auteurs dont CAROLI pour la France ont proposé une méthode d'exploration qui consiste à suivre par des dosages espacés la décroissance plasmatique du colorant. Ils démontrent alors que les points s'inscrivent selon deux courbes exponentielles décroissantes. Parfois même intervient une troisième exponentielle. C'est la méthode dite des pentes K1 et K2 dans laquelle on utilise le rapport $\frac{K1}{K2}$.

c) En 1960 WHEELER, MELTZER et BRADLEY émettent l'hypothèse selon laquelle l'éparation plasmatique d'une substance s'effectue d'après un modèle à 3 compartiments.

Leur hypothèse permet de calculer 2 variables indépendantes l'une de l'autre : Tm, capacité de transport maximum,
S , capacité de stockage.

En fait si les travaux de ROSENTHAL et WHITE, avaient ouvert la voie à l'exploration hépatique, l'élimination de la BSP devait s'avérer au fil du temps infiniment plus complexe que ces auteurs ne l'avaient cru. Le problème des métabolites par exemple est loin d'être résolu, même en faisant appel à des méthodes d'analyse extrêmement fines telle que la chromatographie en couches minces.

D'autre part si les méthodes changeaient, le colorant restait le même. Pourtant de très nombreux travaux signalaient les inconvénients de la BSP tant sur le plan théorique que sur le plan pratique. Les captations extra-hépatiques, cardiaques, musculaires, rénales, et même

cérébrales sont autant de causes d'erreurs qui peuvent fausser le résultat final. Par exemple le sujet porteur de lésions rénales avait des résultats absolument différents selon qu'on tenait ou ne tenait pas compte des pertes urinaires.

En 1957 FOX qui étudiait le métabolisme du Vert d'Indocyanine montrait que ce colorant était excrété dans les voies biliaires.

De plus les animaux hépatectomisés gardaient une concentration plasmatique stable qui prouvait le rôle exclusif du foie dans l'élimination de l'Indocyanine. En 1960 HUNTON montrait qu'il n'y avait pas de pertes urinaires, pas de passage dans le LCR et probablement pas de fixation extra - hépatique. Le recueil total de la bile par dérivation du cholédoque, chez l'animal, permet de retrouver des quantités variables selon les auteurs entre 89 et 100 %.

De très nombreux travaux ont été publiés montrant l'intérêt qu'on pouvait tirer de l'utilisation de l'Indocyanine tant en hépatologie qu'en cardiologie (mesure du débit cardiaque d'après le principe de FICK). D'autres auteurs ont comparé les propriétés de l'Indocyanine et de la BSP, à ce sujet les résultats varient selon la méthode : certains trouvent la BSP supérieure à l'Indocyanine mais la majorité trouve l'Indocyanine supérieure à la BSP. Nous reviendrons nous aussi sur ce problème de la plus grande sensibilité d'un colorant par rapport à un autre, mais il faut toujours se rappeler que l'épuration hépatique n'est point une chose simple.

De toutes façons méthode ou tout colorant ne présentent un intérêt réel que dans des limites bien précises d'utilisation.

LA METHODE

°°°°°

En fait ce ne furent pas WHEELER MELTZER et BRADLEY qui eurent les premiers l'idée de déterminer ces constantes S et Tm. En effet dès 1947 MASON évoque la notion de mesure du maximum d'excrétion d'une substance dont l'élimination est principalement biliaire. Par analogie avec la détermination de la "masse tubulaire active" qui représente une estimation de la fonction tubulaire (sécrétion ou réabsorption) au niveau du rein, il propose la recherche de la "masse hépatique fonctionnelle " qui serait une représentation de la capacité excrétoire maxima d'une substance donnée.

Le principe de la méthode était simplifié : si on injecte par voie intraveineuse à vitesse constante une substance de façon à ce que le taux sanguin soit stable, on peut dire que les quantités excrétées et injectées pendant une même période sont égales.

Comme pratiquement il était difficile d'obtenir une concentration plasmatique constante on devait faire une correction liée à l'accumulation ou à la déplétion sanguine.

WHEELER et coll., sont allés plus loin. Ils ont posé comme hypothèse que la capacité excrétoire était la résultante de deux phénomènes :

-une fixation dans les cellules hépatiques,
-une libération dans les voies biliaires.

Lorsqu'on injecte un colorant dans l'organisme, la captation hépatique est proportionnelle à la concentration plasmatique de ce colorant. (hypothèse). Le foie après passage du sang dans les espaces portes garde une certaine quantité de substance et cette Rétention Hépatique (Rh) est proportionnelle à la concentration plasmatique. Si nous appelons S la constante de proportionalité la rétention est :

$$Rh = S \times C + K$$

C représente la concentration plasmatique,
K est un coefficient dont nous verrons ultérieurement la signification.

Dans un intervalle de temps dt : si nous injectons un colorant au taux de Img/minute, la concentration plasmatique variera de dC.

dC qui représente le seul phénomène visible au niveau du plasma, est la somme de 2 actions opposées - l'injection d'une part, l'épuration hépatique de l'autre.

On peut représenter la rétention hépatique par l'équation :

$$Rh\ dt = I\ dt - P dC$$

ce qui peut s'écrire :

$$Rh = I - P \frac{dC}{dt} \qquad (1)$$

Rh en mg/minute
I en mg/minute
P : en volume plasmatique exprimé en centaines de ml
$\frac{dC}{dt}$: variation de la concentration plasmatique en fonction du temps.

D'autre part cette rétention hépatique peut s'écrire, toujours pendant dt :

$$Rh\ dt = S\ dC + T\ dt$$

T représente la quantité de colorant qui a été libéré par minute au pôle biliaire de l'hépatocyte soit :

$$Rh = \frac{SdC}{dt} + T \qquad (2)$$

Si on injecte des doses suffisamment élevées, les mécanismes de transport sont saturés et le T devient un Tm.

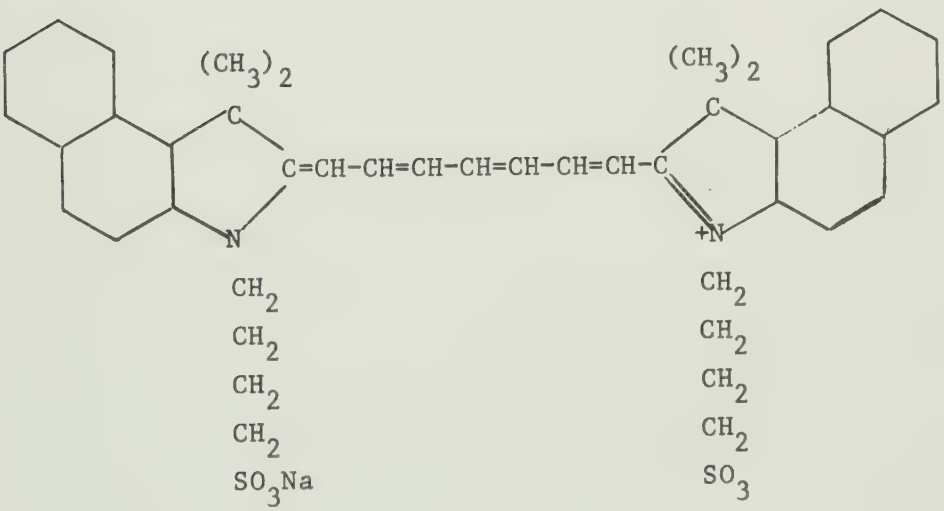
$$Rh = \frac{SdC}{dt} + Tm \qquad (3)$$

Le modèle de WHEELER, séduisit immédiatement par sa conception relativement simple. WHEELER et coll., ont déterminé S et Tm ainsi définis d'abord chez le chien, puis chez l'homme. Leurs résultats furent confirmés par une multitude de travaux. Tous les auteurs utilisaient la BSP, et décrivaient les modifications de S et Tm sous l'action de différents facteurs physiologiques, pathologiques ou pharmacodynamiques. Nous avons appliqué la méthode de WHEELER en remplaçant la BSP par l'Indocyanine, à l'étude de l'épuration hépatique dans les cas normaux et pathologiques. C'est le résultat de cette méthode de perfusion continue de Vert d'Indocyanine qui se trouve exposé ici.

LE COLORANT

°°°°°

Vert d'Indocyanine : sel d'hydroxyde de so - dium de l'Anhydro- 3, 3, 3', 3'-tetramethyl-1, 1'-di-(4-sulfobutyl)-4, 5 ; 4', 5'-dibenzoindotricarbocyanine.



PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES .

Molécule de poids moléculaire 775.

Soluble dans l'eau pure mais la solution aqueuse est peu stable. Très grande stabilité en milieu albumineux : les liaisons avec les albumines font probablement intervenir les doubles liaisons de la molécule, car si on ajoute de l'albumine à une solution d'Indocyanine on note une modification immédiate du spectre d'absorption et l'apparition d'une fluorescence.

Instable en milieu oxydant ou réducteur.

Stable à chaud, perte inférieure à 6 % après 5 heures à 110°.

Maximum d'absorption en milieu aqueux : ..... 790 nm

Maximum d'absorption en milieu CH_3OH : ..... 785 nm

Maximum d'absorption en milieu albumineux : 805 nm

PROPRIETES BIOLOGIQUES .

Liée aux albumines plasmatiques l'Indocyanine est portée par ces molécules dans tous les compartiments liquidiens contenant des albumines.

La liaison ICG-Albumines est suffisamment stable pour résister à des insolubilisations par des sels minéraux.

La molécule migre avec les albumines à l'électrophorèse. Dans les conditions normales il n'y a pas de saturation de la capacité de transport des albumines. Mais si on augmente considérablement dans le milieu la quantité de colorant par rapport au sérum, on note à l'électrophorèse du mélange qu'une faible partie du colorant, 5 % au maximum, migre avec les globulines qui se retrouvent ainsi amenées à jouer le rôle de transporteurs accessoires.

Au niveau du foie la liaison est rompue par un mécanisme mal connu, probablement de nature enzymatique et la molécule est retrouvée intacte dans les voies biliaires (pas de conjugaisons, pas de destructions).

On ignore tout des mécanismes de transports intercellulaires et de libération au pôle biliaire de la cellule hépatique.

Il se pourrait que ces mécanismes soient de nature enzymatique.

PROPRIETES PHARMACODYNAMIQUES .

Pas d'action pharmacodynamique. En particulier ne semble pas modifier le débit biliaire.

Molécule dépourvue de toute toxicité. Nous avons pu atteindre des doses de l'ordre de 4 à 6 mg/kg sans apparition de troubles d'aucune sorte. Les doses usuelles sont de l'ordre de 1 à 1, 5 mg/kg en ce qui concerne les explorations hépatiques ; ces doses que nous avons empiriquement trouvées sont du même ordre que celles utilisées par LEEVY et BENDER dans leurs travaux soit 0, 5 à 2, 5 mg/kg.

En cardiologie on utilise 0, 4 à 1 mg/kg.

PRESENTATION .

Flacons de poudre lyophilisée de 25 à 50 mg. Conservation sous vide assez poussé.

Contient en outre 8 % d'iodures : impuretés et fabrication.

Afin de vérifier que l'Indocyanine est très excrétée par le foie nous avons tenté de marquer la molécule par l'iode ^{131}I.

Malheureusement l'iode se fixe sur les doubles liaisons de la molécule ce qui a pour résultat immédiat d'en modifier le spectre et le pouvoir de liaison avec les albumines.

De plus rien ne prouve que l'iodoindocyanine ait les mêmes propriétés que la molécule de départ.

Nous avons injecté l'iodoindocyanine au lapin, on note des images de fixation au niveau du foie, des reins, et de la thyroïde . Ces images sont dues à l'iode ^{131}I marqueur qui se joint aux iodures (impuretés de fabrication) accompagnant la molécule. On ne peut pas conclure.

La solution consisterait en un marquage de la molécule lors de la synthèse. Ce qui sort du cadre de ce travail.

L'APPLICATION DE LA METHODE

° ° ° ° °

Le colorant est perfusé dans une veine du bras ou d'un membre antérieur, au taux I_1 mg/minute.

Au temps 0 nous faisons un prélèvement destiné à servir de témoin. Au bout de 30 minutes nous faisons un prélèvement en notant avec précision le temps t_1, puis viennent les prélèvements au temps t_2, t_3 et éventuellement t_4, les intervalles $t_1 - t_2$, $t_2 - t_3$ ... etc , étant du même ordre c'est-à-dire de 7 à 10 minutes.

Lorsque le dernier prélèvement qui correspond au taux de perfusion I_1 est effectué, nous changeons la vitesse de perfusion et le cycle recommence. Au bout de 30 minutes après injection au taux I_2 nous prélevons à t'_1 un échantillon, puis t'_2, t'_3 ... etc.

Nous utilisons de la même manière un taux I_3 et le plus souvent possible I_4.

Le sang est recueilli sur Héparine Fournier ou Roche, qui ne contiennent pas de bisulfite susceptible de détruire la molécule, et centrifugé à 4 000 Trm pendant 20 minutes. Nous avons éliminé systématiquement les sérums troubles ou hémolysés.

Pendant l'épreuve le volume plasmatique est mesuré par dilution d'albumine radioiodée. On utilise un perfuseur BRAUN.

La détermination des concentrations se fait par lecture du plasma à 805 mp à l'Unicam en utilisant comme référence le prélèvement effectué au temps 0.

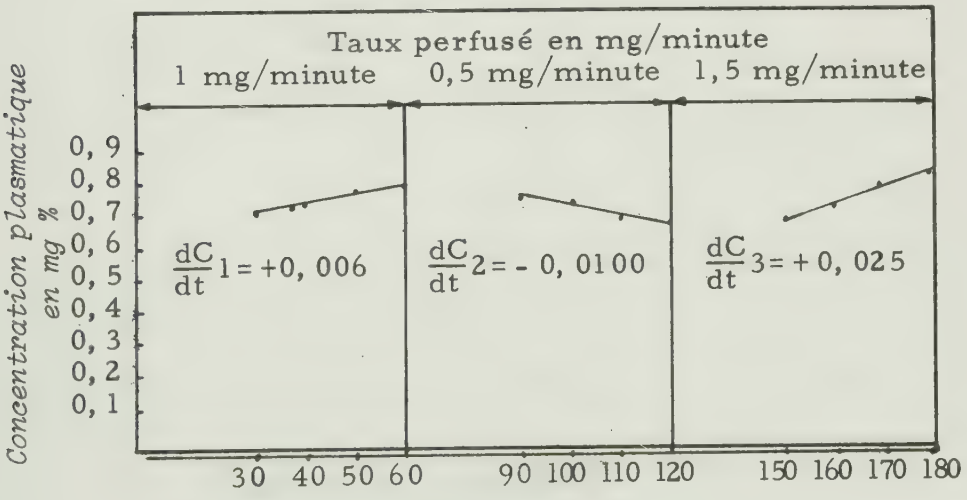
Pour chaque malade nous traçons une courbe étalon en utilisant une partie aliquote de la solution perfusée. Cette solution que nous diluons en milieu albumineux est préparée extemporanément, quelques minutes avant l'épreuve et sa concentration est déterminée à partir des pesées des flacons avant dilution et enfin après lavage et séchage.

Les pesées ont été effectuées au $\frac{1}{10}$ ème de mg.

Nous avons utilisé 150 à 225 mg de colorant pour les sujets témoins, pour les sujets malades les quantités ont été réduites de 75 à 150 mg.

Dans ces conditions les solutions avaient une concentration de 2, 5 à 3 mg/ml chez les sujets sains et de 1, 5 à 2, 5 mg/ml chez les sujets atteints.

Les taux de perfusions varient de 0, 5 à 3 mg/minute. Pour chacun des taux I_1, I_2, I_3, etc, nous pouvons mesurer grâce aux prélèvements à t_1, t_2, t_3 ; t'_1, t'_2, t'_3, etc des valeurs de $\frac{dC}{dt}$ soit $\frac{dC}{dt}1$, $\frac{dC}{dt}2$, $\frac{dC}{dt}3$, etc.



Ce tableau illustre ce qui se passe au niveau du plasma.

Taux de perfusion	Temps de prélèvement	Concentration plasmatique	
	t 1	C_1	
I_1	t 2	C_2	$\frac{dC}{dt}$ 1 → Rh_1
	t33	C_3	
	t'1	C'_1	
I_2	t'2	C'_2	$\frac{dC}{dt}$ 2 → Rh_2
	t'3	C'_3	
	t''1		
I_3...	t''2		

Ce tableau montre la présentation que nous avons adoptée pour les calculs et à chaque couple I, $\frac{dC}{dt}$ correspond une valeur de Rh du fait de l'équation (1).

Si nous portons ces valeurs dans l'équation 3

$$Rh\ 1 = Tm + S\ \frac{dC}{dt}1$$

$$Rh\ 2 = Tm + S\ \frac{dC}{dt}2$$

$$Rh\ 3 = Tm + S\ \frac{dC}{dt}3$$

Cette équation de Rh en f $(\frac{dC}{dt})$ est celle d'une droite de pente S et d'ordonnée à l'origine Tm.

Deux méthode sont alors possibles pour déterminer S et Tm :

a) Méthode graphique

Sur 2 axes orthonormés on porte sur l'axe des abcisses les valeurs de $\frac{dC}{dt}$ et sur l'axe des ordonnées les

valeurs de Rh correspondantes. On trace la droite qui passe par les points ainsi obtenus et on détermine graphiquement ses paramètres S et Tm. C'est la méthode la plus simple mais aussi la moins précise.

Certains auteurs ont même préconisé l'emploi de deux points. Nous en avons toujours utilisé trois au minimum, car il est bien connu de tout scientifique que si par 2 points on peut théoriquement ne faire passer qu'une seule droite, pratiquement on peut faire passer n'importe quelle courbe.

b) Méthode de calcul

C'est une méthode qui à l'aide de calculs mathématiques permet de trouver les paramètres de la droite pour laquelle la distance aux points expérimentaux est minimale.

On peut obtenir outre sa pente et son ordonnée à l'origine d'autres "caractéristiques" de cette droite, notamment son coefficient de régression qui est une indication de la linéarité de l'équation 3.

C'est ce calcul de statistique élémentaire qui nécessite au moins 3 points et dont la validité croît avec le nombre de points.

Le plus souvent possible nous avons utilisé 4 points.

Nos calculs ont été vérifiés par l'ordinateur IBM 1130 de l'unité de recherches cardiologiques de l'Hôpital du Tondu.

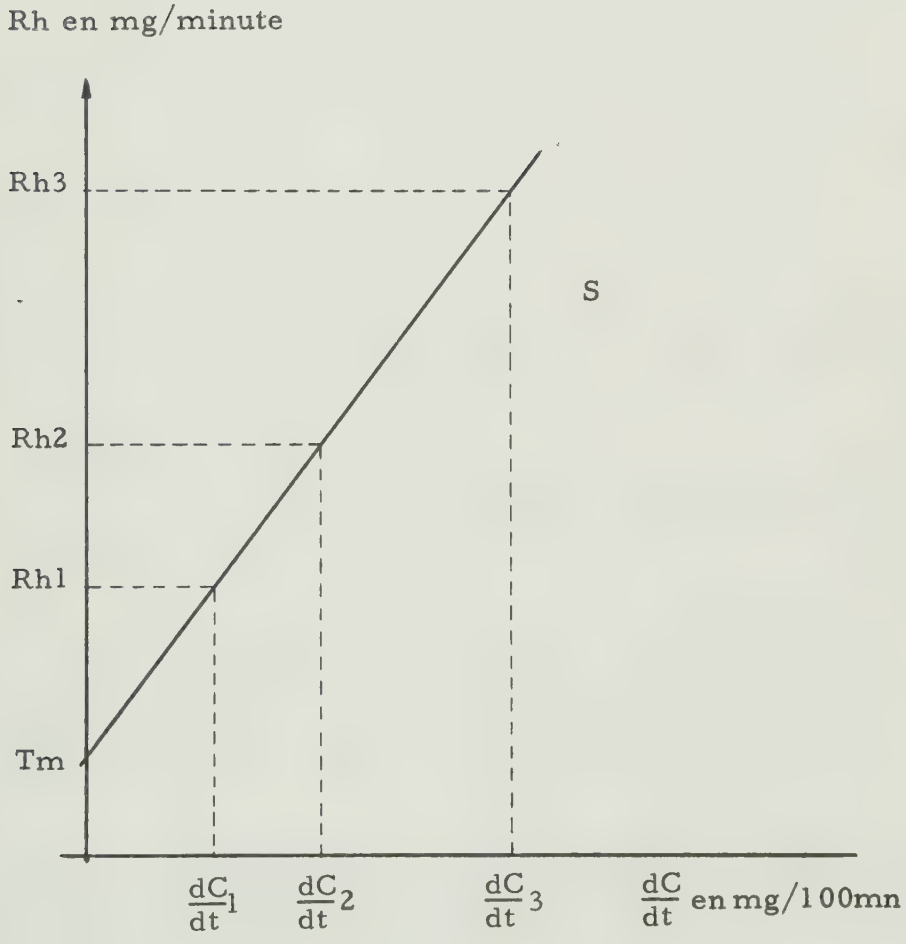


Tableau illustrant la relation (3)

Pratique chez l'animal : chien

Nous avons déterminé S et Tm sur 4 chiens d'un poids de 10 à 17 kg anesthésiés au mélange Pentotal-Palfium.

Les perfusions ont été faites à un membre antérieur et les prélèvements à un cathéter placé sur la veine fémorale.

3 chiens ont pu être utilisés 2 fois, 1 animal est mort d'accident infectieux post-opératoire.

Chez l'homme

Perfusion par une veine du bras.

Prélèvements à l'aide d'un trocard de Cournand placé dans l'artère fémorale sous anesthésie locale et laissé en place au cours de l'expérience.

Dans certains cas - travaux réalisés au centre de réanimation - nous avons utilisé un trocard de Longwale placé dans l'artère humérale ou dans la radiale.

Que ce soit chez l'homme ou chez l'animal, il est nécessaire de disposer d'une voie permettant un prélèvement quasi instantané : (artère ou veine à très gros débit) ceci augmente la précision sur les temps de prélèvements, d'où sur les $\frac{dC}{dt}$ et enfin sur le résultat final S et Tm.

Dans le cas particulier des sujets cirrhotiques décompensés nous pouvions craindre que du fait des échanges permanents entre le liquide d'ascite et le plasma, une part des colorants suive les albumines et soit de ce fait soustraite à l'action du foie.

Dans 4 cas nous avons effectué simultanément à l'épreuve une ponction d'ascite. Nous n'avons dans aucun cas retrouvé de colorant dans l'ascite même à dose faible. Par contre dès la 6ème heure après le début de la ponction l'Indocyanine passe dans l'ascite.

De même nous avons vérifié que l'albumine radioiodée ne passait pas dans l'ascite dans les délais utilisés pour la mesure du volume plasmatique. Nous avons donc bien mesuré le volume circulant.

Les sujets étaient âgés de 22 à 70 ans, hommes ou femmes indifféremment et d'un poids de 40 à 87 kg, non fébriles, mais certains étaient ictériques, du fait de leur atteinte hépatique. Les explorations ont toujours eu lieu sur des sujets à jeun depuis 12 heures, sauf en ce qui concerne ceux qui étaient en coma après absorption de barbituriques, alors cette règle ne pouvait pas être observée avec certitude.

LES RESULTATS

°°°°°

CHIENS

Groupes	Sexe	Age	Poids	Tm mg/mn	S mg/mg/100ml
Chiens n°1239	F		14	0, 24	54, 03
n°1236	F		11, 3	0, 22 0, 28	28, 15 24, 70
n°1243	F		12, 5	0, 18 0, 20	10, 11 7, 60
				0, 24 ± 0, 04	24, 92 ± 15

En considérant ces valeurs on note :

1°) Que chez un même animal les résultats sont très reproductibles.

2°) La dispersion pour les valeurs de Tm extrêmement faible, alors que les valeurs de S varient de 7, 60 à 54, 03 mg/mg/100ml.

Les chiens n'ont pu être explorés convenablement du point de vue hépatobiliaire et il ne nous est malheureusement pas possible de relier cette dispersion des valeurs de S à des manifestations physiologiques ou pathologiques.

SUJETS SAINS

Pour ces sujets totalement abstinents, il n'a pu être retrouvé absolument aucune atteinte hépatique quels que soient les critères cliniques biologiques ou anatomopathologiques.

CLAUD.. J-Baptiste	M	40	65	1,00	162
AGUI.... Béatrice	F	32	40	1,54	201
BRET... Jeanine	F	23	55	1,19	103
COU .... Jean	M	40	67	1,22	285
" "				1,18	209
" "				1,43	108
INCIA .. Manuel	M	51	55	0,87	161
KELIFA Ahmed	M	30		1,11	89
LAUR... Henri	M	47	76	0,99	90
LE..... Joao	M	36	53	1,49	209
NO..... Jean	M	23	53	1,04	269
ZAL..... Salah	M	40	62	0,92	173
BAIL.... Louis	M	51	73	0,80	87
DELABDE. Ahmed	M	36	66	1,17	131
				1,13	153
Moyenne				$1,15 \pm 0,25$	$162,3 \pm 69$

Ce tableau des sujets sains nous montre que le Tm est compris entre :

Tm est compris entre 0, 80 et 1, 54

S est compris entre 87 et 285

En deça de Tm = 0, 80 (soit 65 % de la moyenne)
et S = 87 (soit 53 % de la moyenne) on peut craindre des lésions hépatiques. La limite supérieure que nous donnons n'a pas de signification, mais GASTARD et COUSIN ont montré dans une étude portant sur 44 cas de malades présentant une clearance de la BSP anormalement élevée, que 26 malades présentaient des atteintes hépatiques certaines, 14 une atteinte probable.

Un tel travail n'a pas encore été réalisé en ce qui concerne le Vert d'Indocyanine aussi la question reste-t-elle posée : un S ou un Tm anormalement élevé peut-il être en relation avec une atteinte hépatique ?

SUJETS ETHYLIQUES

DEYC... Joseph	M	71	52	1, 19	55
GONN... Félix	M	48	58	0, 48	152
GOUVI.. Pierre	M	48	53	1, 06	63
IMBE... Daniel	M	67	56	0, 92	67
JOUR... René	M	49	56	0, 67	127
LAPEYSSO..Angèle	F	39	51	0, 05	255
TO..... Marie	F	46		0, 70	90
DELARU..Gérard	M	37	75	1, 14	122
" "				1, 27	115
MI..... René	M	42	73	0, 85	81
Moyenne				0, 83 $\pm$ 0, 42	112 $\pm$ 70

Quand on considère ce tableau on peut noter que le Tm moyen (0, 83) se situe près de la limite inférieure des Tm des sujets sains.

D'autre part, pour 6 malades pour lesquels la valeur de Tm est supérieur à 0, 80 la valeur de S est inférieure à 87mg/100ml/mg.

Inversement des valeurs de S supérieures à 87 sont associées à des valeurs de Tm inférieures à 0, 80.

DELARUE.. Gérard représente la seule exception à cette règle. L'étude du dossier de ce malade ne révèle que des altérations minimes bien que le malade ait présenté à l'entrée dans le service et pendant les 8 premiers jours de son hospitalisation un état de délirium tremens absolument caractéristique.

CIRRHOTIQUES SANS ASCITE

CAL.... Emile	M	68	64	0, 59	41
DABA.. Henri	M	60	72	0, 53	24
" "				0, 40	9
DABA.. Michel	M	63	76	0, 34	64
GEOR.. Georges	M	60	66	0, 32	119
LANU.. Marcelle	F	34	39	0, 49	36
LATREBE.. Jean	M	45	87	0, 77	309
MAR.. Raymond	M	58	63	0, 16	40
MONTLO.. Jean	M	63	78	0, 58	81
BOIN..... Jean	M	47	63	0, 66	13
Moyenne				$0,48 \pm 0,22$	74 ± 92

On note dans ce tableau un abaissement net des valeurs tant de Tm que de S, la valeur maximale du Tm n'est plus que de 0, 77 et la minimale à 0, 34.

Pour S, exception faite du cas de LATREBE.. Jean et GEOR... Georges, les valeurs de S sont inférieures à 81.

D'autre part, la même constatation peut être faite concernant l'association S —— Tm : à une valeur de S supérieure à 87 correspond une valeur de Tm inférieure à 0, 80.

Par contre les différences sont moins frappantes entre les Tm des sujets alcooliques et ceux de la catégorie ci-dessus.

CIRRHOTIQUES AVEC ASCITE

BAR.... Eugène	M	60	79	0, 46	60
CHAGN. Eliane	F	36	53	0, 55	113
CHARRU. Gilberte	F	48	58	0, 79	20
COM... Denise	F	36	59	0, 39	31
" "		37		0, 34	17
CONSTAN. Albert	M	65	79	0, 48	65
CORRIV.. Jeanne	F	35	53	0, 77	37
GLEYR.. Jacques	M	61		0, 34	42
PAILHAU. André	M	49		0, 50	29
TOULO... Serge	M	70	78	0, 42	138
RA..... Louise	F	48		0, 55	33
" "				0, 49	14
VE..... André	M	53	63	0, 90	77
VER..... Louis	M	47	97	0, 37	53
" "		48	87	0, 20	102
DELG.... Roger	M	56	61	0, 21	29
GIRA.....	F	50		0, 81	8
CHAV.... Marie	F	47	48	0, 75	62
DU..... Armand	M	70	80	0, 29	26
LARO.. Adrien	M	59	79	0, 33	46
LACO.. André	M			0, 36	65
" "				0, 38	64
Moyenne				$0,50 \pm 0,20$	49 ± 36

Les valeurs de Tm de ce groupe ne sont pas très différentes de celles du précédent.

Par contre les valeurs de S sont plus basses.

En fait notre distinction repose essentiellement sur un critère clinique : la présence de l'ascite, car nous avons considéré l'apparition de cette ascite comme un signe d'aggravation. Cette distinction s'est trouvée confirmée à posteriori par la recherche des différences significatives entre différents groupes.

HEPATITES VIRALES

0, 07	0, 175
0, 58	6, 1
0, 47	0, 306
0, 68	4, 6
0, 85	42

On note un effondrement des valeurs tant de Tm que de S, ceci coïncide avec une véritable "sidération de la cellule hépatique".

Le premier malade (Tm = 0, 07 et S = 0, 175) a présenté un tableau d'hépatite virale fulminante et est décédé 48 heures après l'hospitalisation.

Le dernier cas correspond à une hépatite virale en voie de guérison.

HEPATITES CHRONIQUES ACTIVES

0, 82	21, 2
0, 50	30

HEPATITES CHOLOSTATIQUES

	0, 77	57, 9
	0, 74	48, 1
	0, 79	51, 4
	0, 80	79, 9
	0, 75	16, 5
	0, 77	29
Moyenne	0, 77 $\pm$ 0, 02	47, 1 $\pm$ 20

On notera la similitude des chiffres entre ces deux groupes pourtant cliniquement, biologiquement et anatomopathologiquement différents.

HEPATITES MEDICAMENTEUSES

Contraceptifs oraux	0, 80	60, 7

Quand on récapitule les valeurs de S et de Tm que nous avons trouvées dans ces différentes catégories d'hépatites, on note que le seul fait absolument net est l'abaissement de S dans les hépatites virales pendant la période d'état de la maladie. En dehors de l'effondrement du Tm (0, 07) dans le cas d'hépatite virale fulminante les autres valeurs sont à peu près du même ordre, quel que soit le type d'hépatite ; tout au plus peut-on noter une élévation du Tm dans le cas des hépatites cholostatiques.

En conclusion il ne nous paraît pas possible pour le moment d'utiliser à coup sûr l'épreuve en perfusion continue du Vert d'Indocyanine pour établir un diagnostic certain dans un cas d'hépatite. L'épreuve n'offre un réel intérêt que dans les cas d'hépatites virales en période clinique.

OBSTRUCTION EXTRA HEPATIQUE

0, 91	129
1, 01	85, 3
0, 903	34

Les Tm sont normaux mais la gène à l'écoulement de la bile se manifeste par un abaissement des valeurs de S.

PERI HEPATITES

0, 50	150, 5

Le cas de périhépatite est à signaler, en effet sur le plan biologique le Tm de l'Indocyanine a été le seul chiffre pathologique. Le rapport avec l'atteinte fut établi par la laparoscopie et la PBF.

Il est intéressant de signaler que l'organe était atteint dans sa périphérie mais que les examens histologiques ont formellement éliminé toute atteinte cellulaire intra-parenchymateuse.

Enfin nous avons déterminé S et Tm dans un cas d'hémochromatose :

Tm = 0, 40 mg/mn

S = 129, 5 mg/mg/100ml

et chez un sujet atteint de lésions tuberculeuses nous avons trouvé :

Tm = 0, 73 mg/mn

S = 83, 4 mg/mg/100ml

S'il a été facile, relativement, de différencier les divers groupes, hépatites cholostatiques, ou hépatites chroniques, périhépatites... etc à partir de données

cliniques, biologiques, et anatomopathologiques, la distinction entre les témoins sains, les alcooliques, et les cirrhotiques fut plus difficile à établir.

En effet, sur le plan clinique ou biologique l'éthylisme n'est pas défini de façon nette. Le groupe de témoins sains est constitué de sujets pour lesquels on a constaté non seulement par des données biologiques mais aussi anatomopathologiques l'absence d'atteinte hépatique.

Le groupe des éthyliques a été à l'origine ainsi défini : sujets ne présentant pas de troubles sur le plan de la biologie, ou de la clinique, ou présentant des troubles extrêmement mineurs mais qui avouent une consommation excessive de boissons alcoolisées. Plus tard cette division s'est trouvée confirmée par l'étude des différences entre les groupes qui ont montré le bien fondé de ce classement.

Le passage de l'éthylisme à la cirrhose n'étant pas une étape nette, on comprend que les chiffres S et Tm de certains cirrhotiques soient plus élevés que ceux de certains sujets éthyliques.

De plus l'étude des résultats biologiques montre que dans 6 cas sur 9 les sujets éthyliques ont une BSP normale.

Ceci montre la sensibilité de la méthode et du colorant employé : le problème de la plus grande sensibilité d'un colorant par rapport à l'autre n'a pas été résolu.

Certains auteurs pensent que la BSP est plus intéressante que le Vert d'Indocyanine. La plupart pensent le contraire et LEMONNIER a exploré 109 cas pour lesquels l'épuration à la BSP était normale quand celle du Vert d'Indocyanine était pathologique.

Pour d'autres auteurs la différence dépend de la dose, aux doses supérieures à 1 mg/kg le Vert d'Indocyanine est plus sensible que la BSP.

ETUDE CRITIQUE DES RESULTATS

° ° ° ° °

En considérant l'ensemble des résultats otenus, nous constatons que :

1°) Le calcul statistique nous a conduit à éliminer 25 malades pour lesquels la corrélation était significativement différente de 1 ; le nombre des cas éliminés se répartit ainsi :

Témoins ..... 3 cas,
Sujets alcooliques décompensés 14 cas,
Sujets décédés ..... 5 cas.

Nous tenons compte des sujets pour lesquels nous n'avons obtenu que 2 valeurs de Rh. Le calcul statistique perdant alors toute signification. En outre, lorsque l'atteinte hépatique est très importante, les valeurs de Tm et S sont effondrées, mais surtout, S ayant une valeur très basse de l'ordre de 1, 2, ou 3, la droite représentant l'équation $Rh = S \frac{dC}{dt} + Tm$ devient pratiquement parallèle à l'axe des abcisses et par définition il n'existe plus de relation valable entre Rh et $\frac{dC}{dt}$.

2°) Les valeurs trouvées chez l'animal sont identiques à celles trouvées par CURTISS et KLASSEN pour la BSP

Chien 0,17 mg/minute,
Rat 0,97 mg/minute,
Lapin 1,05 mg/minute.

En ce qui concerne l'homme les seules valeurs trouvées dans la littérature sont celles données par HOWARD :

S = 70 mg/mg/100

Tm = 7 mg/minute.

Elles sont sensiblement différentes des nôtres, cependant nous n'avons pas pu retrouver les expériences et les chiffres de HOWARD ayant permis de calculer de telles valeurs, et rien de permet d'expliquer de tels écarts.

Signalons tout de même qu'un Tm de 7 mg/minute conduit à perfuser au minimum 1260mg de colorant, ce qui est une dose considérable dépassant largement les 0,2 mg/kg conseillés par le fabricant. D'autre part, la perfusion de 4 mg/minute même chez un sujet sain, provoque au niveau du plasma une croissance de dC en fonction du temps qui se rapproche de la verticale. De ce fait l'erreur sur $\frac{dC}{dt}$ croit et le calcul de Tm en subit la conséquence.

Chez un cirrhotique même avec des lésions hépatiques éloignées de celles du stade terminal, la dose de 1mg/minute est une limite d'utilisation.

En remplaçant l'Indocyanine par la BSP, nous avons retrouvé à plusieurs reprises les valeurs indiquées dans la littérature, ce qui élimine une erreur de manipulation.

3°) Certains sujets ont eu 2 déterminations de S et Tm, soit lors de différents séjours dans le service, soit lors du même séjour. Ceci nous a permis de vérifier la reproductibilité de la méthode tant chez l'animal que chez l'homme.

Lorsque ces déterminations ont été faites au cours du même séjour, on retrouve aux erreurs d'expérience près, les mêmes valeurs.

Rappelons :

BEL.... Amhed	1,17	131
	1,13	156
DEL.... Gérard	1,14	122
	1,27	115

De même pour les chiens :

	Tm	S
n° 1236	0,22	28,15
	0,28	24,70
n° 1243	0,18	10,11
	0,20	7,60

Par contre si ces déterminations ont été effectuées au cours de différents passages en milieu hospitalier les chiffres sont identiques ou abaissés :

	Tm	S
COUR... Jean	1,22	285
	1,18	209
	1,43	108
LACO... André	0,36	65
	0,38	64
RA..... Louise	0,55	33
	0,49	14
DABA... Henri	0,53	24
	0,40	9
COM.... Denise	0,38	31
	0,34	17

Dans les 3 derniers cas il a pu être prouvé que les malades n'avaient pas suivi les conseils d'abstinence.

4°) L'existence d'un Tm a été mise en doute pour la BSP. Il n'existe aucune preuve directe de l'existence d'un Tm pour ce colorant. La preuve directe de l'existence du Tm, à perfuser le sujet, ou l'animal, au taux du Tm mg/minute.

Dans ce cas on devrait noter d'abord que la concentration plasmatique se maintient à un niveau stable, indéfiniment.

Ensuite que la concentration biliaire croit de façon linéaire en fonction du temps, le débit étant constant.

Malheureusement toutes ces hypothèses représentent un ensemble de circonstances pratiquement impossibles à réunir.

SCHOENFIELD a pu de cette façon apporter une preuve de la notion du Tm, par une expérimentation sur un sujet porteur d'un néo de la tête du pancréas.

La mise en place d'un drain de KEHR permettait de récupérer la quasi totalité de la bile sécrétée. SCHOENFIELD constata que la quantité de BSP dans la bile variait très peu, les concentrations s'échelonnent entre $2,4 \pm 0,5$ mg/ml.

La comparaison entre les résultats obtenus par le calcul mathématique et ceux obtenus par la méthode colorimétrique montre une différence significative mais faible : le Tm déterminé par le dosage de la BSP dans la bile est égal à 89 % du Tm théorique.

SCHOENFIELD et coll., dans une deuxième expérimentation injectèrent la BSP à une dose égale au Tm trouvé lors de la première épreuve.

Ils notèrent alors que la concentration plasmatique ne variait plus en fonction du temps. Il existait donc bien un Tm pour la BSP.

Nous avons opéré de la façon suivante pour le cas de l'Indocyanine :

- 8 sujets exempts d'affection hépatique, âgés de 18 à 30 ans, ont reçu une perfusion de colorant à des doses comprises entre 0, 5 et 0, 7 mg/minute environ

pendant 60 minutes. Les courbes de concentration plasmatique ont été tracées à l'aide de prélèvements effectués de minute en minute entre le temps 0 et le temps 60 minutes pendant la perfusion, et de 30 secondes après l'arrêt de la perfusion.

Les courbes obtenues se divisent en 3 parties :

. 1 partie ascendante qui n'obéit à aucune loi mathématique. La forme de la courbe dépend de la quantité injectée par minute. Aux doses faibles, la montée se fait lentement et la courbe est aplatie ; aux fortes doses la montée est plus rapide.

. 1 partie plus horizontale mais non rectiligne qui va de la 20ème minute environ à la 60ème.

La partie descendante, près l'arrêt de la perfusion suit exactement une loi logarithmique et tout se passe comme si nous avions fait une injection unique. C'est-à-dire que la courbe peut être considérée comme étant la résultante de 2 exponentielles décroissantes.

- 5 sujets porteurs d'un drain de KEHR.

Chez ces sujets nous n'avons calculé S et Tm que d'après 2 valeurs de Rh. De ce fait ils n'entrent pas dans le calcul des moyennes mais nous avons noté que la perfusion de colorant n'entraînait pas de variations notables du débit biliaire ; quoique le drain de KEHR ne permette qu'une collection incomplète de la bile, nous avons recueilli en 24 heures plus de 90 % de la quantité injectée, dont 80 % dans le temps de l'épreuve.

-Dans les cas d'obstructions biliaires extrahépatiques, il est possible de calculer S et Tm et en outre l'équation de WHEELER est vérifiée.

En conclusion :

D'après le premier groupe d'expérience si le

Tm n'existait pas, la perfusion à un taux inférieur donnerait des concentrations plasmatiques stables permettant le calcul d'une valeur quelconque.

D'après le second groupe nous aurions des modifications du débit biliaire et une concentration biliaire maximale quel que soit le taux de perfusion comme c'est le cas pour la BSP.

Malheureusement, le fait du petit nombre de cas et les limites de l'expérience ne nous permettent pas de voir dans ces résultats autre chose qu'une indication.

QUELQUES CORRELATIONS

° ° ° ° °

Nous avons chercher à établir des corrélations entre S, Tm, S. Tm, et S/Tm avec différents tests à "polarité hépatique".

Ces corrélations sont résumées dans le tableau suivant :

	Tm			S		
	n	r	p	n	r	p
Age	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00
Poids	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00
Sexe, taille	"	"	"	"	"	"
Albumines	52	0, 46	0, 01	52	0, 34	0, 05
Globulines α, β	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00
Globulines γ	45	-0, 32	0, 05	45	-0, 31	0, 05
BSP 15	0,00	0, 00	0, 00	33	-0, 51	0, 01
BSP 45	"	"	"	33	-0, 46	0, 01
Bilirubine totale	"	"	"	52	-0, 30	0, 05
Bilirubine directe	22	-0, 41	0, 05	0, 00	0, 00	0, 00
Bilirubine indirecte	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00	0, 00
Phosphatases alcalines	"	"	"	31	-0, 31	0, 05
Test de Mac Lagan (thymol)	"	"	"	42		0, 05
Test de Kunkel	42		0, 05			

Quand on considère ce tableau on note que :

1°) Il n'y a pas de corrélation entre Tm et S d'une part, l'âge, le poids et le sexe d'autre part. LEEVY et BENDER n'ont pas trouvé de corrélation avec l'âge des sujets. Or ces corrélations existaient pour la BSP et qu'elles n'existent pas pour l'Indocyanine peut paraître surprenant. En fait nous pensons que notre résultat négatif est la conséquence du petit nombre de cas : afin d'éviter toute erreur due à des facteurs exogènes nous n'avons cherché ces corrélations que dans le groupe des témoins, or leur petit nombre est un obstacle.

2°) Par contre les corrélations existent avec les différents tests biologiques à polarité hépatique.

Eliminons tout de suite le cas des tests hépatiques de MAC LAGAN et KUNKEL. Ces tests ne sont qu'une appréciation pratique pour les cliniciens des résultats donnés par l'électrophorèse des protides. Le fait qu'il existe des corrélations entre les données de l'électrophorèse et Tm et S entraîne automatiquement que ces corrélations existent entre les tests de KUNKEL et MAC LAGAN et S et Tm. Les corrélations existent avec le test de HANGER, mais vu l'appréciation toute relative du HANGER (de 0 à +++ selon l'opérateur) nous n'en n'avons pas tenu compte et ne les présentons pas.

3°) Les corrélations existent entre Tm et S et la chute des albumines. Ceci peut être expliqué selon 2 hypothèses

- 1° hypothèse : l'existence de la corrélation est due aux mécanismes de transport sanguin du colorant. Le taux d'albumines permet un apport plus considérable au foie et une excrétion plus rapide du colorant. Cette hypothèse est peu probable étant donné que le taux plasmatique est extrêmement éloigné de la saturation des albumines et même quand ce taux serait atteint les autres protéines serviraient alors de transporteurs accessoires.
- 2° hypothèse : un des signes de l'atteinte hépatique est l'abaissement de la capacité de synthèse des albumines

-plus le foie est atteint, plus le taux d'albumines décroit- ce qui explique la corrélation positive. C'est l'hypothèse que nous admettons.

4°) Il existe une bonne corrélation avec les gamma-globulines. En effet une élévation du taux des gamma-globulines coïncide souvent, en dehors d'un contexte infectieux, avec une atteinte hépatique. Cette atteinte se traduit par une baisse de S et de Tm.

5°) Nous expliquons de même les corrélations avec la BSP. Les valeurs de la BSP à 15 et 45 minutes sont d'autant plus basses que le foie est en bon état d'où l'augmentation de S et Tm.

6°) Par contre quand on considère la bilirubine non conjuguée, les corrélations n'existent que pour le Tm, ceci serait lié, d'après nous, au fait que le Tm rendrait compte de ce qui se passe au pôle biliaire de l'hépatocyte.

7°) De même il existe une corrélation entre les phosphatases alcalines et S. Nous pensons que c'est parce que S rend compte des phénomènes intracellulaires.

8°) Nous avons cherché les corrélations entre les différents groupes et les produits S. Tm. Ces corrélations existent mais n'apportent rien de plus.

9°) Par contre le quotient S/Tm utilisé par certains auteurs américains dont WHEELER a été abandonné, d'une part il ne montre aucune différence significative entre les différents groupes, d'autre part, il n'y a aucune corrélation avec les tests biologiques étudiés.

DISCUSSION ET CRITIQUE

° ° ° ° °

Trois points sont à étudier :

- Le colorant,
- La méthode,
- L'intérêt qu'on peut attendre sur le plan du diagnostic et du pronostic.

LE COLORANT .

Pourquoi le Vert d'Indocyanine au lieu de la BSP ou du Rose Bengale ?

1°) Eliminons tout de suite le Rose Bengale, ce colorant a connu quelques succès mais il a été à peu près totalement abandonné parce qu'il possède l'inconvénient d'être hémolytique, ce qui entache tous les dosages d'une erreur par excès. Signalons un renouveau lié à l'utilisation de Rose de Bengale marqué par l'iode ^{131}I. On suit alors les courbes de fixation, hépatique , splénique . Mais nous entrons dans le domaine de l'explora - tion biologique par les isotopes, exploration dont on sait qu'elle nécessite un appareillage assez complexe.

2°) La BSP :

C'est le colorant le mieux connu à l'heure actuelle et de loin le plus utilisé. C'est aussi celui de tous les colorants qui a été le plus étudié et a suscité le plus de polémiques.

On s'est très vite aperçu de la complexité du métabolisme de la BSP. La substance était excrétée sous forme conjuguée mais le mécanisme de la conjugaison est complexe. On s'accorde à décrire aujourd'hui 3 métabolites de la BSP séparés par chromatographie en couches minces, mais certains auteurs ont avancé le chiffre de 5.

Le colorant présente l'avantage d'être fourni en ampoules dosées à 30 mg/ml. Les doses pour une perfusion continue sont de l'ordre de 1000 à 1200 mg.

Il présente l'inconvénient de devoir être dosé par alcalinisation du plasma, technique qui, simple dans son principe s'avère très délicate à l'emploi : il y a toujours le risque d'opacification du plasma, soit par précipitation de substances dissoutes, soit par gélification.

Certains auteurs avait signalé des problèmes d'interférences avec la bilirubine des sérums ictériques.

L'utilisation de spectrophotomètre de précision –permettant d'utiliser une bande de longueur d'onde réduite– permet de négliger ce phénomène.

Le plus gros inconvénient réside dans les captations extrahépatiques, captations musculaires, cérébrales, pertes urinaires... ect.

Dans le cas normal on évalue ces pertes à 10 % de la dose captée par le foie, mais il est bien prouvé que dans les insuffisances hépatiques les captations extrahépatiques vont croître. Il s'agit en somme d'un processus de suppléance qu'on ne peut absolument pas quantifier.

3°) Le Vert d'Indocyanine :

Il est beaucoup moins connu que la BSP, mais de très nombreux auteurs pensent qu'il est préférable à la BSP. Les avantages ne sont pas négligeables sur le plan pratique :

- Dosages par lecture directe du plasma à 805 m/u sans extraction, ou sans addition de réactif.

  Bien qu'à cette longueur d'onde l'absorption due à l'hémoglobine libérée par une hémolyse éventuelle n'interfère pas. Nous avons éliminé systématiquement les sérums troubles ou hémolysés.

- Par contre l'utilisation du Vert d'Indocyanine impose la préparation extemporanée du colorant ; pesées et dilutions se font sur des doses de poudre de 50 à 200 mg ; ce qui exige une manipulation extrêmement précise et rigoureuse.

  Sur le plan théorique : les avantages sont indiscutables,

  . Pas de captation extrahépatiques ou de pertes urinaires,
  . Pas de conjugaison, ce qui supprime un processus métabolique supplémentaire,
  . Pas de cycle entérohépatique.

Dans tous les travaux qui ont comparé la sensibilité du Vert d'Indocyanine à celle de la BSP, il semble que la plupart inclinent à trouver que les modifications des explorations hépatiques (quel que soit la méthode employée) sont plus précoces dans le cas du Vert d'Indocyanine que dans le cas de la BSP.

En outre le retour à la normale s'effectue plus lentement pour le Vert d'Indocyanine que pour la BSP.

En ce qui concerne le débit biliaire, la BSP provoque à fortes doses, des modifications du débit liées à un effet toxique.

Pour le Vert d'Indocyanine HORAK a montré chez le rat Whistor perfusé avec du Vert d'Indocyanine une diminution biliaire : il est le seul à signaler cette action. Il semblerait que ce soit un cas isolé.

LA METHODE .

En elle-même, telle que nous l'avons appliquée paraît plus complexe, tant sur le plan matériel que sur le plan pratique, que celle de l'injection unique.

Nous avons opéré en plaçant un trocard en intra-artérielle, ce qui est un geste non dénué de certains risques.

Dans deux cas nous avons dû arrêter l'épreuve car il se formait un hématome au niveau de l'artère fémorale (sujets assez âgés et dont le taux de prothrombine était très bas par suite des troubles hépatiques : le sang s'infiltrait dans le tissu périartériel en passant par l'orifice de pénétration du trocard).

L'utilisation de trocards en téflon (Longwale) présente l'avantage de diminuer les risques de dilacération de l'artère.

De toutes façons, la pose et la manipulation d'un trocard ou d'un catéther intravasculaire ne pouvant s'effectuer avec le minimum de risques pour le sujet à explorer, qu'en milieu hospitalier, il est nécessaire sinon obligatoire d'hospitaliser le sujet.

Nous avons eu quelque espoir dans l'utilisation possible de cellules permettant de lire les concentrations plasmatiques à travers le lobe de l'oreille ; de telles cellules sont utilisées en cardiologie pour mesurer le débit cardiaque. En fait il ne semble pas qu'on puisse dans le cas particulier de l'exploration hépatique utiliser un tel appareillage. En effet, dans les explorations cardiologiques, les concentrations plasmatiques obtenues sont beaucoup plus élevées que celles qu'on peut noter dans les explorations hépatologiques ; l'erreur absolue due aux normes de constructions de ces cellules, qui n'influe pas dans le premier cas, fausse absolument la détermination de S et de Tm. Il s'agit donc en définitive d'un problème matériel qui trouvera sa solution avec l'amélioration de l'appareillage, par l'abaissement du seuil de détection et l'accroissement de la sensibilité. Avec de tels densitomètres à l'oreille cesserait d'être un instrument de recherches pour devenir un outil de travail.

Mais si on revient à la comparaison entre la méthode de l'injection unique et celle en perfusion continue, la complexité de la seconde n'est qu'apparente. Le point délicat de l'une comme de l'autre est le minutage précis des temps de prélèvements, et même de la durée des prélèvements : conditions de réalisation qui ne peuvent jamais se produire de façon entièrement satisfaisante dans les méthodes par injection unique telles qu'elles sont habituellement mises en jeu.

En effet, on effectue l'injection à une veine d'un bras, avec tous les aléas qui se rattachent à une intraveineuse qui doit être rapide et bien exécutée, et on effectue les prélèvements de l'autre côté. Chacun sait que dans ces conditions il est très difficile, sinon impossible de mesurer les temps avec précision. Nous avons constaté que dans le cas d'une atteinte hépatique quelconque, la cirrhose éthylique, par exemple, la concentration plasmatique variait entre le début et la fin d'un même prélèvement ; et cette variation, d'autant plus nette que l'atteinte était importante, pouvait fausser le calcul de S et Tm si la durée du prélèvement excédait 15 secondes. Le problème ne se pose plus lorsqu'on dispose de la voie artérielle (ou chez le chien de la veine fémorale) ; le prélèvement s'effectue alors en 3 ou 4 secondes et on peut le considérer comme instantané. Pour que la méthode de l'injection unique jouisse d'une précision du même ordre que celle en perfusion continue il faudrait comme dans le cas de cette dernière prélever par voie artérielle ce qui ne se fait jamais. Reconnaissons tout de même que cette méthode d'injection unique suffit aux cliniciens pour avoir une estimation des lésions si lésions il y a.

L'INTERET .

Quel intérêt peut-on tirer de l'exploration hépatique telle que nous l'avons pratiquée ? C'est la question principale qu'on peut se poser.

Tout dosage ou toute exploration a pour finalité ultime soit la connaissance de la physiologie hépatique, soit l'application d'une thérapeutique.

Le modèle de WHEELER peut être utilisé de 2 façons distinctes.

D'une part, on peut suivre la fixation et l'élimination de certaines substances pharmacodynamiques.

Par exemple l'étude de l'élimination des corticoïdes, ou même de substances toxiques telles que le tétrachlorure de carbone. C'est à cet aspect que se sont attachés les chercheurs.

D'autre part, on peut à partir des valeurs de S et Tm porter un diagnostic et un pronostic. Il faut reconnaître qu'en ce qui concerne le problème du diagnostic : il ne peut être résolu par l'étude de S et Tm. Il suffit de se rapporter aux chiffres de S et Tm présentés dans les tableaux, pour se rendre compte de la difficulté de l'opération.

Tout au plus des chiffres S et Tm normaux permettent-ils d'exclure à coup sûr une atteinte hépatique. Nous n'avons jamais eu de valeurs normales chez un individu au foie atteint de quelque affection que ce soit et inversement, des valeurs pathologiques ont toujours pu être rattachées à un état pathologique.

De toutes façons il faut se rappeler que l'exploration hépatique par les colorants est toujours destinée à s'intégrer dans un contexte biologique, clinique, qui permet de porter un diagnostic.

Le problème du pronostic a été étudié. Nous avons pu constater de façon empirique que quand le produit S. Tm était $\leqslant$ 5 mg/100ml/minute, la mort survient dans un délai variant de 8 jours à 2 mois.

Ceci a été vérifié dans 7 cas sur 8. Le 8ème est constitué de R.... qui a pu être guérie après 3 comas hépatiques successifs.

A l'heure actuelle la malade régulièrement suivie, et devenue totalement abstinente se porte bien un an après.

SIGNIFICATION CLINIQUE de S et Tm

°°°°°°

Nous en arrivons ainsi à la signification de S et Tm, c'est-à-dire à leurs liens avec la physiopathologie hépatique.

La constante Tm :

La signification des valeurs de S et Tm c'est-à-dire leurs liens avec la physiopathologie hépatique.

BELVIOT a émis l'hypothèse que le Tm rendrait compte de ce qui se passe au pôle biliaire de l'hépatocyte. Pour BORG le Tm serait le reflet de la cholérèse : il permettrait d'évaluer la captation cellulaire hépatique mais aussi la possibilité d'élimination canalaire au niveau des canalicules biliaires, des canaux biliaires intra puis extra-hépatiques.

Quand on observe les variations du Tm dans les différentes catégories on note que le Tm des obstructions extra-hépatiques est quasiment normal, il est très peu abaissé dans les hépatites cholostatiques.

Nous pouvons citer un cas d'angiocholite :

BOSDE...	1ère analyse	S = 39	Tm = 0, 77
	2ème analyse	S = 42	Tm = 0, 80

Tous ces arguments nous amènent à émettre l'hypothèse que le Tm est la donnée biologique qui rend compte de toute la fonction hépatique. Plus que de rendre compte de ce qui se passe au pôle biliaire de l'hépatocyte le Tm rend compte d'un ensemble de phénomènes qui vient de la captation au pôle vasculaire du transport intracellulaire et de la libération au pôle biliaire de la cellule. Il représente la véritable "surface fonctionnelle de l'organe".

Qu'un des éléments soit atteint par un processus malin (foie cardiaque, cirrhose, hépatite, cirrhose thrombibiliaire, néo du foie) et le Tm baissera parallèlement à la gravité de l'atteinte.

D'autre part, il nous semble que le Tm à quelques exceptions près ne varie que dans un seul sens. Dans le cas des atteintes par l'alcool (on pourrait bien sûr objecter qu'aux erreurs d'expérience près, on ne peut tenir compte de la baisse du Tm) il est troublant de constater que toutes les déterminations itératives conduisent à un abaissement du Tm.

On verra dans le tableau suivant, des déteriorations de S et Tm réalisées chez des sujets qui avaient absorbé de fortes doses de barbituriques. Nous ne présentons pas de moyennes de Tm et de S pour ces sujets car il n'était pas possible d'exclure une atteinte hépatique par cirrhose ou une atteinte post hépatique, et ils n'ont pas été explorés dans ce sens. Tout au plus avons-nous choisi des sujets jeunes, chez lesquels l'atteinte était peu probable.

Dans ce tableau on note que ces sujets ont des Tm normaux, à l'exception de LOUS..., CALVIN...., et LAV... .

La valeur de S :

Si nous nous référons toujours à BORG, S correspond au compartiment cellulaire hépatique.

Nous abonderons dans ce sens en apportant à l'appui de cette hypothèse les arguments suivants :

1°) Les barbituriques sont reconnus à l'heure actuelle comme inducteurs enzymatiques et suscitent un intérêt passionné chez tous les chercheurs.

Nous présentons le tableau de sujets ayant absorbé une forte dose de barbituriques.

Groupes	Sexe	Age	Poids	Tm mg/mn	S mg/mg/100ml
ARN. .François	M	23		0, 78	433, 47
BUO...	M	20		0, 98	265, 01
CAL. . Jean	M	21		0, 64	309, 86
DARB...	M	45		1, 108	228, 63
FOURQ... Anne-Marie	F	24		0, 87	215, 60
LACASS...	F	30		1, 132	167, 71
LAVIE....	M	29		0, 70	216, 39
LOUST....	F	57		0, 640	258, 77
PERE.....	M	48	60	0, 911	183, 11
RA... Guy	M	22	68	0, 91	226, 04

On note une élévation nette des valeurs de S sans aucune comparaison possible avec celles retrouvées chez les témoins.

Or, on pense à l'heure actuelle que l'action des barbituriques se situerait au niveau de la biosynthèse de la glycuronyl transferase dont ils augmentent la production.

2°) S est normal dans le cas de périhépatite pour laquelle l'étude histologique a révélé un parenchyme indemne de toute atteinte cellulaire.

3°) Dans le cas de stéatoses guéries, S remonte à une valeur normale.

GENEST... Marie Tm : 0, 64 S : 154

Le Tm de 0, 64 mg/minute coïncide avec un "processus cirrhogène au début".

4°) Par contre dans les hépatites cholostatiques S est très bas, comme si la cholostase était liée à un déficit enzymatique.

BRADLEY enfin, a signalé que S pouvait varier sous l'action de différentes influences, mais il ne pense pas que la capacité de stockage soit modifiée par l'ischémie ou l'hypoxie.

5°) Il existe une bonne corrélation entre les valeurs de S et les phosphatases alcalines. Ceci cadre parfaitement avec notre hypothèse de départ.

6°) Si nous nous repportons aux groupes des malades éthyliques et cirrhotiques, les valeurs de S ne sont pas significativement différentes entre les 2 groupes.

Par contre, les Tm des éthyliques et des sujets témoins sont significativement différents, ce qui nous amène à penser que l'abaissement du Tm constitue le premier signe d'alerte avant même que les autres tests soient évocateurs.

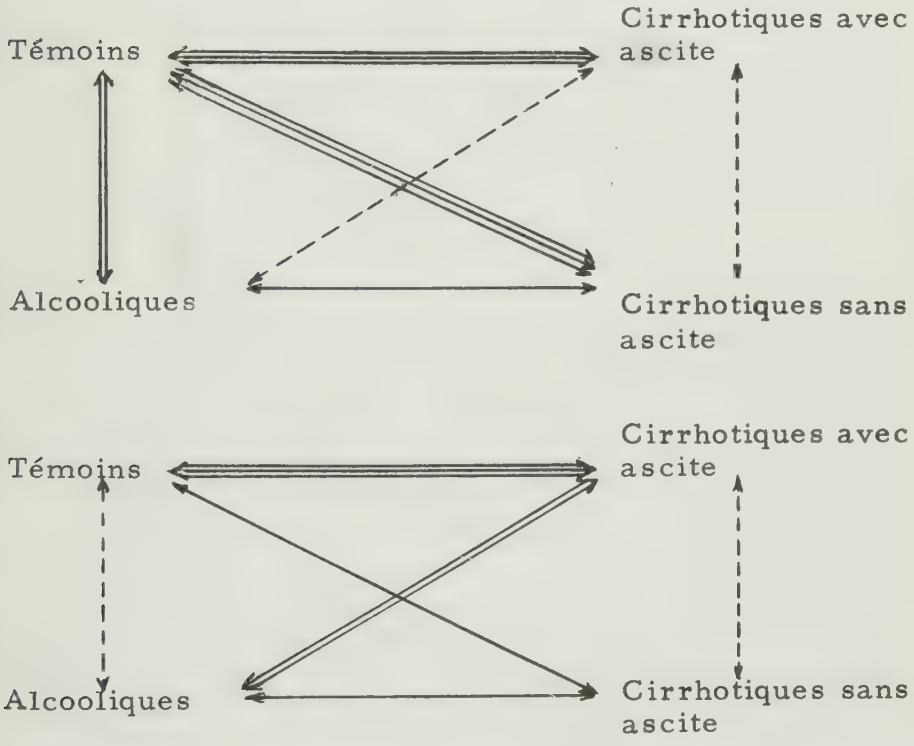
De plus si les différences entre les Tm éthyliques et les cirrhotiques ne sont pas significatives, les différences des valeurs S le sont.

Nous en concluons donc que le passage du stade éthylique au stade cirrhotique sans ascite se manifeste par une atteinte qui porte sur les structures intracellulaires.

Comme nous l'avons dit plus haut, les différences de S entre les groupes cirrhotiques sans ascite et cirrhotiques avec ascite ne sont pas significatives, que l'on considère S ou Tm, mais à ce stade de l'atteinte le délabrement est

tel qu'une telle épreuve devient superfétatoire.

Nous reproduisons dans le tableau suivant les différences avec les limites de signification.



Différence non significative p 0, 05 -------

Différence significative p 0, 05 ———

" " p 0, 01 ═══

" " p 0, 001 ═══

C O N C L U S I O N S

° ° ° ° °

Il pourrait paraître surprenant voire inutile que nous proposions une nouvelle méthode d'exploration hépatique.

Après tout la méthode d'injection unique a fait ses preuves et paraît suffisante aux cliniciens.

Dans de telles conditions pourquoi une perfusion continue ?

Si sur le plan de la facilité, les méthodes d'injection unique sont plus intéressantes, sur le plan des résultats on peut arguer que les clearances obtenues ne sont qu'une image globale de tous les phénomènes (transport et captation au pôle vasculaire, transport intracellulaire et sécrétion du colorant au pôle biliaire).

La méthode de perfusion continue tente d'apporter quelques éclaircissements non seulement sur la physiologie mais éventuellement sur la pathologie hépatobiliaire en différenciant les fonctions que nous venons de rappeler.

En effet, il semble que les valeurs de S et Tm soient indépendantes l'une de l'autre et qu'elles correspondent à des phénomènes distincts.

La véritable fonction hépatique dans tout ce qu'elle comporte comme processus métabolique serait représenté par le Tm. La valeur S ne constituerait qu'une étape dans le métabolisme d'une substance au niveau du foie.

Si on quitte le domaine de la recherche en physiologie hépatique pour aborder celui de la clinique, cette méthode permet de détecter de façon extrêmement précoce des altérations éventuelles : nous avons pu voir que dans un certain nombre de cas les épreuves habituellement utilisées restaient dans une limite normale alors que l'épreuve de perfusion d'Indocyanine green traduisait déjà une atteinte hépatique. Cette sensibilité présente donc un réel intérêt pour les cliniciens.

On peut également suivre par des épreuves de perfusion continue itératives l'action d'une thérapeutique quand elle est instaurée.

Nous avons tenté de considérer ces deux points de vue, d'abord en déterminant S et Tm chez des sujets répartis en différentes catégories et dans un deuxième temps après application d'une thérapeutique nous avons réussi à suivre cette thérapeutique.

Beaucoup de points restent encore obscurs, notamment le métabolisme du Vert d'Indocyanine. On ne sait à peu près rien sur les mécanismes de transports intracellulaires et on en est réduit à des hypothèses qui mettraient en jeu des phénomènes enzymatiques. Quand bien même ces hypothèses se trouveraient-elles confirmées ou au contraire infirmées, nous ne pensons pas que l'intérêt diagnostique en soit diminué pour autant.

Sur le plan de la perfusion proprement dite, la détermination du Tm nécessite d'obtenir dans un premier temps un taux de perfusion supérieure à ce même Tm de façon à avoir des concentrations plasmatiques croissantes ; certains auteurs ont même préconisé l'emploi d'une dose de charge.

C'est pratiquement la seconde vitesse de perfusion qui permet de déterminer le Tm, au point que WHEELER (dans le cas de la BSP) conseille d'utiliser une deuxième vitesse de valeur inférieure et une troisième vitesse du même ordre que la première : le calcul du Tm se ferait en utilisant les deux valeurs de Rh otenues dans les

deux derniers tiers de l'épreuve : la première vitesse ne servant qu'à saturer le parenchyme hépatique et les mécanismes de transport.

Notre expérience personnelle nous a conduit très vite à rechercher dès la deuxième vitesse un taux d'injection très proche du Tm. Nous obtenions alors des concentrations plasmatiques pour cette deuxième partie qui croissaient ou décroissaient lentement dans le temps, ou encore restaient stables dans le temps. Nous avions donc, dès la lecture des densités optiques, une valeur proche du Tm, qui était déjà une indication sur l'exactitude de nos calculs ultérieurs ; en effet, le calcul statistique devait obligatoirement conduire à une valeur très proche de la valeur expérimentale.

Reconnaissons tout de même que malgré les satisfactions qu'on puisse tirer du fait de connaître avec plus de précision le point d'attaque d'un trouble, le point d'impact d'une thérapeutique, la méthode de perfusion continue dans sa forme actuelle fait encore partie du domaine de la recherche fondamentale.

Il lui manque pour passer dans le domaine des applications courantes le moyen de connaître les concentrations plasmatiques à tout instant.

Quand on aura supprimé le traumatisme dû à la pose du trocard le problème sera définitivement résolu.

REFERENCES

page 2 - ligne 8 : 3, 11, 15
ligne 16 : 5, 7, 8, 24, 26
ligne 19 : 6, 14, 33, 34, 42, 43
page 3 - ligne 5 : 6
ligne 15 : 12, 17, 18, 20, 23, 24
page 9 - ligne 19 : 23, 24
page 11 - ligne 19 : 12, 13, 27
page 15 - ligne 26 : 40
page 28 - ligne 3 : 18
page 30 - ligne 5 : 31, 32, 33, 34
page 38 - ligne 5 : 21, 22, 23, 24, 25
ligne 28 : 3, 21
ligne 34 : 6
ligne 38 : 17, 29, 37
page 39 - ligne 19 : 19
page 41 - ligne 6 : 41
page 42 - ligne 6 : 6
ligne 8 : 11

B I B L I O G R A P H I E

° ° ° ° °

1 - ALBERT S., SHANSER A., ARIAS IM., MOSNER M. - Multiplicity of hepatic excretory mecanismes for organic anions.
O-GEN Physiol 1969-53, 238. 247.

2 - BAKER KJ. - Binding of BSP IG by plasma l lipoprotéines.
Proc. Soc. Exp. Biol. 1966, 122, 957.

3 - BARBIER F. - L'exploration hépatique par l'Indocyanine Green. Comparaison sur la BSP.
Belgica 1964 - 27.

4 - BARBIER F., DE WEERDT GA. - Chromatography and I. R. Spectrography of Indocyanine Green.
Chimica clinica acta 1964, 10, 549 - 554.

5 - BEGON F. - Epreuve de la BSP. Analyse des courbes d'élimination. Essai d'interprétation physiopathologique.
Vie médicale 1967, 48-S 81.

6 - BELVIOT C. - La capacité sécrétoire maximale de la BSP.
Thèse de doctorat en sciences naturelles Lille 1969, 113.

7 - BOURDON G. - Etude quantitative de l'épuration sanguine de la BSP chez le rat.
Revue int. hep. 1964, 14, 1, 80.

8 - CAROLI J., NYS A., ALLIOT F. - Pentes d'élimination de la BSP après injection unique. Leur valeur diagnostique dans les affections hépato-biliaires. Sem. hôp. Paris, path. biol. 32, 1956, 1013. 1021.

9 - BRAUER RW., KREBS JS., PESSOTTI RL. - The distribution and excretion of S^{35} Labeled sulfobromophtalein sodium administred to dogs by continuous infusion. J. Clin. Inves. 1955, 34-35.

10 - BRAUER RW., PESSOTTI RL. - Hepatic uptake and biliary excretion of bromsulphtalein in the dog . Amer. J. Physiol., 1950, 162, 565.

11 - BORG R. - L'épreuve de la BSP en perfusion continue dans les indications et la surveillance thérapeutique des affections hépatobiliaires. Bordeaux Thèse doctorat en médecine 1972.

12 - CHERRICK GR - IG observations on its physical properties plasma decay and hepatic extraction. J. Clin. inves. 1960, 39, 592.

13 - COBB LA. - Effects of reducing agents on IG dye. Amer heart J 1965, 70, 145.

14 - COMBES B., WHEELER HO., CHILDS AW., BRADLEY SE. - The mechanisms of bromsulfasin removal from the blood. Trans, ass amer Phys. 1956, 69, 276-284.

15 - FAUVERT R., BENHAMOU , LOVERDO - Considérations générales sur la notion de clearance hépatique. Rev. int. hépat. 1968, 8, 429.

16 - GROZMANN RJ., KOTELANSKI B., KENDLER J., ZIMMERMAN HJ - Effect of sulfobromophtalein and Indocyanine Greenon bile excretion . Boston University School of medecine. Boston Massachussets 02130.

17 - HORAK W., GRABNER G., PAUMGARTNER G. - Effect of Indocyanine Green on bile flow and bile salt excretion.
A model to study cholestasis (abstract).
6ème Meeting Europ. ass. Study liver London 1971.

18 - HUNTON DB., BOLLMAN J. L., HOFFMAN HN - Studies of hepatic function with Indocyanine Gree.
Gastro, 39 : 713-724, july-december 1960.

19 - HOWARD MM., SENYSZYN J., LEEVY CM - Use of dichromatic ear densitometry to evalute kinetics of Indocyanine Green removal in liver disease (abstract).
Gastroenterologie 48, 501, 1965.

20 - HUNTON DB, BOLLMAN JL, HOFFMAN HN., II/ Hepatic removal of Indocyanine Green.
Stff meet. Mayo Clin., 35 : 752-755, 7 décembre 1960.

21 - LEMONNIER F. - Intérêt diagnostique de l'épreuve couplée BSP - IG.
Pathologie biologique 1969, 17, 687.

22 - LEEVY CM. - Use of dyes in evaluating hepatic function and blood flow .
Acad med. bul. 7 juin 1961.

23 - LEEVY CM., BENDER J., SILVERBERG M., NAYLOR J. - Physiology of dye extraction by the liver : comparative studie of sulphobromophtalein and Indocyanine Green.
Ann, N. Y. acad. of Sci. 111 : 161-175, 30 décembre 1963.

24 - LEEVY CM., STEIN SW., CHERRICK GR., DAVIDSON CS. - Indocyanine Green clearance : a test of liver excretory function clin. Res 7 : 290 , 1959.

25 - LEWIS A. - Investigation of hepatic clearance.
Am. J. Clin. Path. 1958, 54-61.

26 - MENDELOFF AI., KRAMER P., INGELFINGER FJ., BRADLEY SE . - Studies with BSP factors alterning its disapareance from the blood after a single intraveinous injection.
Gastroenterologie 1949, 13, 222.

27 - SIMMONS R., SHEPARD RJ. - Does Indocyanise Greenobey Beer'slaw ?
J. Appl. Physiol. 30, 502, 1971.

28 - PAUMGARTNER G., LONGUEVILLE J., LEEVY CM - Phagocytic activity and hepactic function following localised proton radiation to the liver.
Aerospace med. 38 : 248-251 Mars 1967.

29 - PAUMGARTNER G., LEEVY CM 36 - The Indocyanine Green clearance in jaundice.
Ikterus, international Symposium 27, 29 octobre 1967 Freiburg i. br. pp. 419-423.
Original in german.

30 - RITT DJ., SCHENKER S., COMBES B. - Taurocholic acid stimulation of apparent maximal biliary excretion of sulfobromophtalein sodium (abstract).
Gastroenterology 53, 322, 1967.

31 - SCHOENFIELD LJ. - Ssulfobromophtalein transport and metabolism.
Gastroenterology 1965, 48, 4, 530-533.

32 - SCHOENFIELD LJ., FOULK WT. - Studies of sulfobromophtalèin sodium metabolism in man. The effect of artificially induced fever, norethandrolone (nivelar) and iopanoic acid.
J. Clin. Inves. 1964, 43, 1419.

33 - SCHOENFIELD LJ., FOULK WT., BUTT HR. - Studies of sulfobromophtalein sodium metabolism in man. In normal subjects and patients with hepatic disease.
J. Clin. Inves. 1964, 43, 7, 1409-1418.

34 - SCHOENFIELD LJ., FOULK WT., MAC GILL DB. - Studies of sulfobromophtalein sodium metabolism in man. Demonstration of a transport maximum (Tm) for biliary excretion of BSP.
J. Clin. Inves. 1964, 43, 1424.

35 - STANLEY H., LORBER , MORTON, OPPENHEIMER, SHAY H., LYNCH P., SIPLET H. - Enterohepatic circulation of bromosulfophtlein, intraduodenal, intraportal, intravenous dye administration in dogs.
J. Physiol. 1953, 173, 259.

36 - STEKIEL WJ., KAMPINE JP., BANASZAK EF; SMITH JJ. - Hepatic clearance of Indocyanine in the dog

37 - THOMAS GP. - The practicability and clinical application of Indocyanine Green as an hepatic function test.
1 Mars 1961, Tulane University Medical School.

38 - TOULET J. - Les facteurs d'épuration de la BSP.
Rev. Int. Hep. XVIII, 4, 1968, 525-531.

39 - TOULET J., DAVEZAC JF., LUNEL J., ALBOT G. - Essai sur l'interprétation diagnostique de l'épreuve à la brome-sulfone-phtaléine.
Sem. Hôp. Paris 1965, 41, n°31 à 35, 1851 - 1886 et 1919 - 1937.

40 - TOULET J., PICHARD J., PAGNIEZ R. - Epreuve de résorption de la BSP dans l'ascite.
Rev. Int. Hep. vol. XVIII, 1968, 4, 591-596.

41, VAN VLEET JF., ALBERTS JO. - Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental carbon tetrachloride intoxication and extrahepatic bile obstruction in the dog.
Amer. J. Vet. Res. 29 : 3119 - 2131 , Novembre 1968.

42 - WHEELER HO., EPSTEIN RM., SNELL ES. - Hepactic storage and excretion of sulfobromophtalein sodium in the dog.
J. Clin. Inves. 39, 236, 1960.

43 - WHEELER HO., MELTZER JI., BRADLEY SE., - Biliary transport and hepatic storage of sulfobromophtalein sodium in the unanesthetized dog, in normal man tateints with hepatic disease.
L. Clin. Inves. 39, 1131, 1960.

44 - WOLLENWEBER HL., KOMBER JL. - Indocyanine Green dye test for hepatic function determinations.
Off. Path. 5 : 1-4, 1 september 1968.

ED. BERGERET 2, rue Bergeret BORDEAUX T. 91.12.59